

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
13. Oktober 2005 (13.10.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/095117 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **B42B 9/00**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/003220

(22) Internationales Anmeldedatum:
26. März 2005 (26.03.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102004016653.6 31. März 2004 (31.03.2004) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **BASF Plant Science GmbH** [DE/DE]; 67056 Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **ROBBEN, Uwe** [DE/DE]; G7, 4, 68159 Mannheim (DE). **LUCK, Thomas** [DE/DE]; Holzmühlstr. 7, 67435 Neustadt (DE). **SEYFFER, Hermann** [DE/DE]; Maass-Str.4, 69123 Heidelberg (DE). **HORMUTH, Wolfgang Alois** [DE/DE]; Von Dalbergstr. 17b, 67487 St Martin (DE).

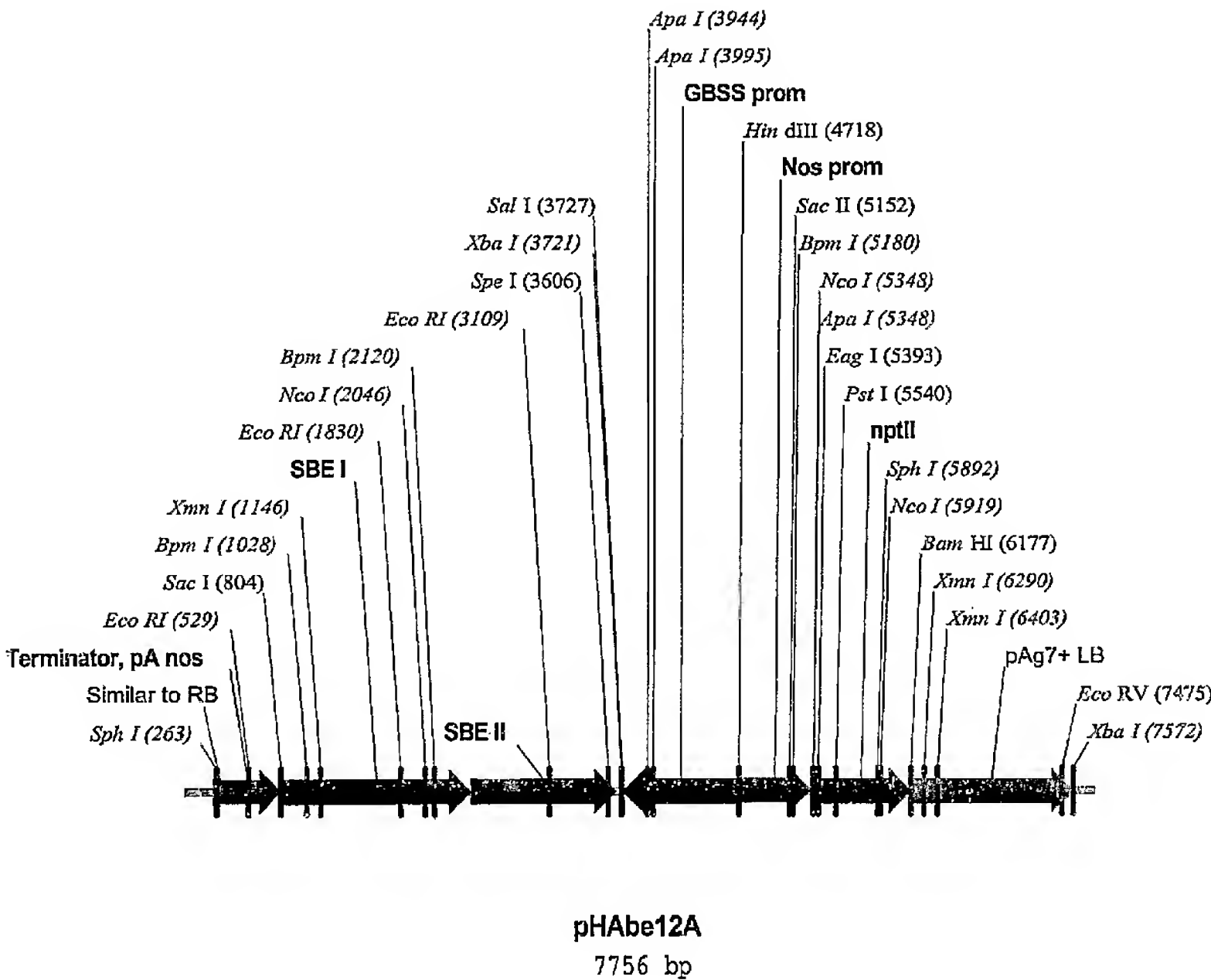
(74) Anwalt: **GOLDSCHIED, Bettina**; c/o BASF Aktiengesellschaft, 67056 Ludwigshafen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: USE OF HYDROXYPROPYLATED HIGH AMYLOSE CONTENT POTATO STARCHES TO ACHIEVE HIGH KIT NUMBERS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON HYDROXYPROPYLIERTER HOCHAMYLOSEHALTIGER KARTOFFELSTÄRKE ZUR ERZIELUNG HOHER KIT-ZAHLEN



(57) Abstract: The invention relates to a method for the production of fat-resistant packaging materials with a kit number greater than 21, by the use of hydroxypropylated high amylose content potato starches.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2005/095117 A2



TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von fettdichtem Verpackungsmaterial mit einer KIT-Zahl von grösser 21 durch Verwendung von hydroxypropylierter hochamylosehaltiger Kartoffelstärke.

Verwendung von hydroxypropylierter hochamylosehaltiger Kartoffelstärke zur Erzielung hoher KIT-Zahlen

Beschreibung

5

Gegenstand der Erfindung sind mehrschichtige, fettdichte Verpackungsmaterialien mit einer Trägerschicht, die aus Papier/Karton oder anderen geeigneten, auf Polymeren basierenden Stoffen bestehen.

10

Weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von fettdichtem Verpackungsmaterial mit einer KIT-Zahl von größer 21 durch Verwendung von hydroxypropylierter hochamylosehaltiger Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von größer 70 %.

15

Es ist seit langem bekannt, Papier- und Kartonbehälter mit Beschichtungen zu versehen, die eine Sperrwirkung für Aromen oder Feuchtigkeit/Flüssigkeiten besitzen. So beschreibt die Patentanmeldung DE 41 09 983 A 1 ein flexibles Verpackungsbehältnis mit einem Verbund aus einer Papierschicht und einer thermoplastischen Schicht oder Folie. Das thermoplastische Schicht- oder Folienmaterial besteht aus Stärke, einem

20

synthetischen, nicht- polyolefinischen, hydroxylgruppenhaltigen Polymeren, z.B. einem oxygenierten Polymeren, sowie Weichmachern natürlichen Ursprungs, z.B. stärkeabgeleiteten Polyalkoholen. Dieses Material kann durch Wärmezufuhr aufgeschmolzen werden und ist daher extrudierbar. In der Patentanmeldung DE 41 37 802 A1 wird vor-

25

geschlagen, einen Karton mit einer beschichteten Papierbahn zu kaschieren, um ein verrottbares, flüssigkeitsabweisendes Produkt zu erhalten. Die Beschichtung der Papierbahn soll auf Stärkebasis erfolgen. Die Patentanmeldung DE 42 94 110 offenbart eine Beschichtungsdispersion, die aus Copolymerisaten von oxidierte Stärke und Styrol, Butadien, Acrylsäure oder ähnlichen polymerisierbaren Molekülen erzeugt wird.

30

Diese Dispersion vermindert die Gas- und Wasserdurchlässigkeit von Karton oder Papier.

Allerdings ist es häufig notwendig, Verpackungsmaterialien mit hoher Fettdichtigkeit bereitzustellen. So fordern Tiernahrung, Backwaren, Konfekt und Schokolade von der Verpackung eine besonders hohe Fettdichtigkeit, die beispielsweise durch die KIT-

35

Zahlen mit Werten zwischen 8 und 12 angegeben werden. Hohe KIT-Zahlen stehen dabei für hohe Fettdichtigkeiten.

Entsprechende im Handel angebotene Papier-/Kartonverpackungen sind üblicherweise einer fettabweisenden Oberflächen- und/oder Massebehandlung unterzogen worden.

40

Für diese Massebehandlung bzw. Oberflächenbehandlung werden derzeit vor allem Fluorpolymere eingesetzt, wobei etwa bis zu 5 Gew.-% Beschichtungsmaterial auf das Material gelangen. Bereits Fettdichten > 6 bis 8 können nur durch Kombinationen von

Schicht- und Massebehandlung erreicht werden, Fettdichten mit KIT-Zahlen > 12 können mit den gegenwärtigen Systemen nicht garantiert werden. Beispielsweise erfordert das Verpacken von trockenem Tierfutter mit niedrigem Fettgehalt (< 10 %) eine Behandlung der Rückseite in der Masse, bei höheren Fettgehalten wird eine Barriere durch Massebehandlung in Kombination mit einer Oberflächenbeschichtung durchgeführt.

Papier-, Papp- und Kartonverpackungen werden ordnungsgemäß über den Altpapierkreislauf entsorgt. Die als Fettbarriere eingesetzten Halogenpolymere gelangen somit über die Papieraufbereitung entweder in die Papierneuware oder in das Prozessabwasser.

Stärkeether sind als Hilfsstoffe und Einsatzstoffe in der Papierindustrie bekannt. Dabei genutzte Eigenschaften sind in der einschlägigen Literatur ausführlich beschrieben. Sie werden eingesetzt in der Oberflächenbeschichtung bzw. dem Strich sowie in pigmentierten Papierbeschichtungen. Auch für den Lebensmittelkontakt zugelassene Papiere, Kartons und Pappen dürfen nach dem BGVV Stärkeether (z.B. Hydroxyethyl- und Hydroxypropylether) enthalten. Stärkeether werden wegen ihrer guten Filmbildungseigenschaft und ihrem Wasserbindevermögen außerdem als Bestandteil von Klebstoffen verwendet. Literatur hierzu findet sich beispielsweise in Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie; W. Baumann/B. Herberg: Papierchemikalien - Fakten zum Umweltschutz (Springer-Verlag); O.B. Würzburg:

Modified Starches: Properties and Uses (CRC Press).

WO 02/02412 beschreibt mehrschichtige Verpackungen für fettende Güter basierend auf nativer, modifizierter Stärke.

Weiterhin ist bekannt, dass Stärkeether-Derivate zu Folien bzw. Filmen verarbeitet werden können, vornehmlich in Gießtechnik aus einer wässrigen Lösung.

Wenn die Herstellung der Stärkeether nach dem Slurry-Verfahren erfolgt, wird die wässrige Stärkesuspension im Alkalischen bei Temperaturen bis zu 50°C derivatisiert. Der Derivatisierungsgrad liegt dabei meist um 0,2. Charakteristisch für diese Verfahren ist die bevorzugte Derivatisierung am C2-Atom. Ein anderes, vornehmlich aus wissenschaftlichen Untersuchungen bekanntes Verfahren (Autoklav-Verfahren) geht von alkalisch aktivierter Stärke aus und kommt bei geringeren Trockensubstanz-Konzentrationen zu homogenen Derivatisierungen, wobei der Derivatisierungsgrad allerdings ähnlich eingestellt wird. Ein Vorgehen nach dieser Strategie ist in der Patentanmeldung DE 42 23 471 A1 beschrieben, wobei die so erhaltenen Stärkeether zur Folienherstellung eingesetzt werden sollen, und zwar insbesondere für die Anwendung als Overhead-, Kopier- und Druckerfolien oder für die Oberflächenveredlung von Spezialpapie-

ren sowie als Verpackungsmaterial. Darüber hinaus wird in dieser Druckschrift erwähnt, dass die genannten Etherderivat-Folien auch im Verbund mit anderen Materialien verwendet werden können.

- 5 Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung von lebensmittelrechtlich zulässigen, fettdichten Verpackungsmaterialien mit sehr hoher KIT-Zahl.

Überraschenderweise hat sich herausgestellt, dass Substrate, die selbst keine ausreichende Fettbeständigkeit aufweisen, wie Papier, Karton, Pappe oder andere aus oder
10 mit Cellulose hergestellte Materialien, dann fettdicht sind, wenn sie mit alkylendioxyderivatisierter Stärke mit einem Amylosegehalt von größer 70% beschichtet sind.

Die vorliegende Erfindung stellt daher mehrschichtige Verpackungen für fettende Güter oder Teile solcher Verpackungen bereit, die eine Trägerschicht aus einem polymeren
15 Material als Hauptkomponente sowie mindestens eine auf die Trägerschicht aufgetragene, nicht die Außenseite der Verpackung bildende Schicht aufweisen, wobei die auf die Trägerschicht aufgetragene Schicht eine alkylendioxyderivatisierte Stärke mit einem Amylosegehalt von größer 70% als Hauptkomponente enthält. Das hierfür verwendete Alkylendioxy kann in gut geeigneter Weise ein C₂-C₆-Alkylendioxy sein. C₂-C₄-
20 Alkylendioxye sind bevorzugt.

Die Beschichtung eines Trägermaterials mit der Funktionsschicht "Hochamylose(HA)-Stärkederivat" realisiert ein fettdichtes Verbundsystem. Die HA-Stärkekomponente ist dabei verantwortlich für die Fettdichtigkeit und weist zudem die Eigenschaft der biologischen Abbaubarkeit auf. Außerdem lässt sich eine solche Stärke gut in Beschichtungs-
25 massen für den angegebenen Zweck einarbeiten, da sie - im Gegensatz zu nativer Stärke - nicht zum Re-Aggregieren (Retrogradation) neigt.

Die Verpackungen der vorliegenden Erfindung sind nicht auf spezifische Ausgestaltungen beschränkt. Ein beispielhafter, bevorzugter Anwendungsbereich sind Verpackungen von Lebens- und Tierfuttermitteln mit geringen Wassergehalten und gleichzeitig hohen Fettgehalten, insbesondere Faltschachteln. Beispiele hierfür sind Verpackungen für Kekse, Schokoladen, sonstige Süßwaren, trockenes Tierfutter, bei denen eine besonders gute Barriere gegen den Durchtritt von Wasserdampf nicht erforderlich ist.
30 Aber auch Verpackungen für fetthaltige Nicht-Lebensmittel (z.B. Kosmetika, ölhaltige Farbpigmente oder dergleichen) können erfindungsgemäß gestaltet werden.

Weitere Anwendungsmöglichkeiten liegen in der Beschichtung von anderen Polymeren als Cellulose mit dem erfindungsgemäß vorgeschlagenen Material (z.B. andere Verpackungskunststoffe) für ähnliche Verpackungsaufgaben. Auch die Beschichtung von
40 Papier im Sinne eines Einschlagpapiers ist eine mögliche Anwendung.

Mit den Verpackungsmaterialien der vorliegenden Erfindung lassen sich hohe Fettdichtigkeiten erzielen, die im Bereich ab einer KIT-Zahl von 10, vorzugsweise von mindestens 17, in der Regel aber wesentlich höher liegen. So können Dichtigkeiten einer KIT-Zahl von über 21 erreicht werden, die mit den bisherigen, nicht biokompatiblen bzw. -
5 abbaubaren Systemen nicht garantiert werden können.

Weitere Vorteile der erfindungsgemäßen Verpackungen sind, dass ihre Herstellung mit üblichen Verfahren der Papier- bzw. Kartonherstellung kompatibel ist und dass sie biologisch abbaubar sind, wobei sie hinsichtlich der ökonomischen und/oder ökologischen
10 Bewertungen im Vergleich zu üblichen Systemen als besonders vorteilhaft einzustufen sind, insbesondere wenn die Faktoren Preis der Beschichtung einschließlich Verfahrenskosten und die Verträglichkeit mit dem Papierrecyclingprozess berücksichtigt werden sollen.

Aufgrund ihrer Bioabbaubarkeit gewährleisten die erfindungsgemäß beschichteten Verpackungen eine gute Verträglichkeit mit den Aufbereitungs- und Abwasserreinigungsmöglichkeiten von Altpapierentsorgungsanlagen. Hier stellt das Abbauverhalten im Papierkreislauf im Sinne der Vermeidung eines weiteren Störstoffeintrags einen entscheidenden Vorteil dar. Geeignete Materialien für die Trägerschicht sind insbesondere
20 Papier, Pappe oder Karton, ggf. in Mischung mit anderen geeigneten oder in der Verpackungstechnologie von Lebensmitteln üblichen oder zulässigen Stoffen wie Bindemitteln oder Farbstoffen. Aber auch andere, bevorzugt auf natürlichen Polymeren wie Cellulose oder dergleichen basierende Materialien oder Kunststoffe können eingesetzt werden.

25 Erfindungsgemäß geeignete HA-Stärkederivate sind solche, die mit einem Alkylenoxid wie Ethylenoxid oder Propylenoxid oder einem längerkettigen Alkylenoxid derivatisiert wurden. Die angelagerten Gruppen vergrößern die Abstände zwischen den Molekülketten und steigern damit deren Beweglichkeit. Der damit gegebene innere Weichmachungseffekt kann nur durch eine Zerstörung der chemischen Bindung rückgängig gemacht werden.
30

Das HA-Stärkederivat sollte auf der Trägerschicht vorzugsweise einen geschlossenen Film bilden. Sofern dies der Fall ist, können bereits sehr dünne Schichten ab etwa
35 6 g/m² Flächengewicht fettdicht sein, sofern das Trägermaterial eine relativ hohe Glätte aufweist.

Die Beschichtung kann als Oberflächenschicht der Innenseite der Verpackung und/oder als Zwischenschicht, ggf. auch mit der Funktion einer verklebenden Schicht
40 zwischen Papier oder Kartonlagen oder dergleichen vorgesehen sein. Auch mehrere direkt aufeinander aufgetragene Beschichtungen können vorteilhaft sein. Ebenso kann vor der Beschichtung mit dem HA-Stärkederivat ein sogenannter Vorstrich (z.B.

mit üblichen Papierbeschichtungsmitteln wie Kaolin oder Stärke) zur Anwendung kommen, der den Zweck einer Vorglättung der Oberfläche hat. Flächengewichte zum Erzielen einer fehlstellenfreien Schicht können so ggf. reduziert werden.

- 5 Die das HA-Stärkederivat enthaltende Schicht kann ggf. durch Aufbringen einer selbsttragenden Schicht aus diesem Material auf die Trägerschicht gelangen. Vorzugsweise wird jedoch eine Lösung oder Suspension des HA-Stärkederivats mit einer geeigneten Menge an Trockensubstanz erzeugt und auf dem Trägermaterial aufgetragen, vorzugsweise aus wässriger Lösung oder Suspension. Eine gut geeignete Menge an Trockensubstanz (TS) des HA-Stärkederivates liegt im Bereich von etwa 5 bis etwa
- 10 50 Gew.-%, bevorzugt im Bereich von etwa 10 bis etwa 40 Gew.-%, wobei die tatsächlich zu wählende Menge v o m vorgesehenen Auftragsverfahren abhängt. So kann in manchen Fällen eine Menge von bis hinunter zu 4 Gew.-% ausreichend sein.
- 15 Das Auftragen kann beispielsweise mit einem Rakel, Sprühen oder per Walzenauftrag erfolgen, ebenso durch "Druckgießen" einer konzentrierteren Lösung sowie durch das flächige Aufbringen einer thermoplastifizierten Schmelze ("Extrusion"). In allen Fällen sollte der Wassergehalt des HA-Stärkederivates nach dem Aufbringen auf dem Trägermaterial vorzugsweise auf < 25 Gew.-% reduziert werden (z.B. durch Trocknen mit
- 20 IR oder konvektiv).

- Neben dem HA-Stärkederivat kann die auf der Trägerschicht aufzubringende Schicht auch weitere Additive enthalten. Zum einen bietet sich die Zugabe von Pigmenten (wie generell in der Papierindustrie üblich) an, andererseits die Zugabe von Glycerin, Harnstoff, Borax, Glyoxal oder anderen Zusatzstoffen mit ähnlichen Eigenschaften und Ef-
- 25 fekten, um gewünschte Werte bezüglich der Elastizität und der Wasser- und Langzeitstabilität zu erzielen. Auch die KIT-Zahl lässt sich in manchen Fällen durch Zusatz solcher Stoffe positiv beeinflussen, z.B. durch Zusatz von Glycerin oder Vernetzer (z.B. Glyoxal). Der Anteil an Hochamylose-Stärkederivat sollte vorzugsweise aber immer so
- 30 hoch sein, dass die Ausbildung eines fehlstellenfreien Films gewährleistet ist.

- Als Ausgangsmaterial wird vorzugsweise Kartoffelstärke mit einem Amylose Anteil von größer 70 % verwendet. Eine Kartoffelstärke mit einem Amyloseanteil von über 70 % kann beispielsweise aus genetisch modifizierten Kartoffelpflanzen isoliert werden, in
- 35 denen die enzymatische Aktivität der Stärkeverzweigungsenzyme SBE I und II gegenüber der nicht genetisch modifizierten Ausgangspflanze reduziert ist. Ein Verfahren zur Herstellung derartiger Pflanzen ist beispielhaft in Beispiel 1 beschrieben. Weitere Beschreibungen zur Herstellungen von gentechnisch modifizierten Kartoffelpflanzen mit einem Amyloseanteil von größer 70 % sind in den Patentanmeldungen WO 92/11375,
- 40 WO 97/20040, WO 92/14827, WO 95/26407 und WO 96/34968 und den Patenten US 5,856,467 US 6,169,226, US 6,469,231, US 6,215,042, US 6,570,066 und US 6,103,893 beschrieben.

Kartoffelpflanzen mit einer reduzierten enzymatischen Aktivität der Stärkeverzweigungsenzyme SBE I und SBE II können alternativ auch durch Selektion von geeigneten mutagenisierten Kartoffelpflanzen gewonnen werden.

5

Als Ausgangsmaterialien können auch Stärken mit einem Amyloseanteil von größer 70 % aus anderen Kulturpflanzen wie beispielsweise aus Mais, Weizen, Erbsen oder Tapioca eingesetzt werden. Pflanzen mit einem Amylose Gehalt von größer 70 % können durch genetische Modifikation unter Verwendung molekularbiologischer Methoden und/oder durch Züchtung und Selektion hergestellt werden.

10

Unter HA-Stärke wird eine Stärke mit einem Amylosegehalt von mindestens 70 % verstanden. Vorzugsweise liegt der Amylosegehalt bei mindestens 80 %, besonders bevorzugt bei mindestens 90 %.

15

Die chemische Modifizierung der Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von größer 70 % erfolgt beispielsweise mit einem C₂- oder C₃-Akylenoxid. Propylenoxid ist bevorzugt.

20

Da die HA-Stärke in geeigneter Weise in Gegenwart von Base modifiziert wird, die für die Beschichtung vorgesehene Masse jedoch günstigerweise in etwa neutral reagieren sollte, so dass im Normalfall eine Neutralisierung mit Säure erfolgen muss, ist die modifizierte HA-Stärke in der Regel stark mit Salzen behaftet. Es ist von Vorteil, wenn dieser Salzgehalt nicht zu hoch ist. So empfiehlt es sich, dass die Beschichtungsmasse in der für den Auftrag vorgesehenen Konzentration eine Leitfähigkeit von nicht mehr als 4.000 - 5.000 pS/cm, vorzugsweise von < 2.000 pS/cm besitzt.

25

Die Zugabe von Säuren und Laugen sollte unter dem Gesichtspunkt erfolgen, dass das entstehende Salz lebensmittelrechtlich unbedenklich ist. Geeignete Säuren sind Phosphorsäuren, eine geeignete Base ist Natronlauge. Die Entsalzung kann beispielsweise durch Dialyse erfolgen.

30

Beschichtungen mit höher derivatisierter HA-Stärke zeigen günstigere KIT-Zahlen als solche mit geringeren Derivatisierungsgraden. Es ist aber nicht erforderlich, hohe Substitutionsgrade zu erreichen, denn bereits geringe Grade können zu positiven Effekten führen. Diese hängen aber auch von der Herkunft der eingesetzten HA-Stärke ab. Während ganz allgemein ein Derivatisierungsgrad von 0,05 bis 1,5 geeignet sein kann, sind Bereiche zwischen 0,1 bis 1,0, ganz besonders zwischen 0,1 und 0,3 bevorzugt.

35

40

Die Herstellung einer als Beschichtungsmasse oder Gießlösung für die vorliegende Erfindung geeigneten HA-Stärkeetherlösung kann beispielsweise wie folgt erfolgen: Die Stärke mit einem Amylosegehalt von größer 70 % (z.B. Weizen-, Mais-, Tapioka,

Kartoffel- oder HA-Erbsenstärke) wird in annähernd dem Doppelten ihres Gewichts an Wasser einige Stunden gerührt und anschließend grob vom Wasser befreit, z.B. durch Abnutschen. Sie nimmt dabei etwa ihr eigenes Gewicht an Wasser auf, so dass sie ungefähr 40 bis 60% Trockenmasse besitzt. Anschließend wird sie in etwa dem 1,5-fachen ihres Feuchtgewichts resuspendiert und durch Zugabe der gleichen Menge etwa 10%iger Base oder Lauge desintegriert. Sofort darauf werden innerhalb weniger Minuten bis ca. 1 Stunde etwa 25 - 75 Gew.-% Alkylenoxid, vorzugsweise Propylenoxid, bezogen auf das Ausgangsgewicht der trockenen HA-Stärke, zugeführt, wobei milde Temperaturen eingehalten werden sollten. Raumtemperatur ist gut geeignet.

10 Man lässt die Mischung mehrere Stunden rühren und anschließend etwa 20 Stunden ruhen; anschließend wird sie mit Säure neutralisiert. Soll eine Entsalzung erfolgen, geschieht dies z.B. durch Dialyse gegen Wasser. Die entsalzte Lösung wird ggf. schonend aufkonzentriert. Der Derivatisierungsgrad der HA-Stärke liegt bei Anwendung von etwa 50 Gew.-% Propylenoxid bei etwa 0,2, in anderen Fällen entsprechend darüber oder darunter.

Eine Entsalzung oder Abtrennung störender Inhomogenitäten kann auch beispielsweise mittels Ultrafiltration erfolgen. Sollte das Produkt zu konzentriert sein, kann eine Verdünnung mit entionisiertem Wasser vorgenommen werden.

20 Nach Zusatz der möglicherweise gewünschten Additive (z.B. Konservierungsstoffe, Füllstoffe, Antistatika, Mittel zur Verbesserung der Elastizität, Vernetzungsmittel) kann bei Bedarf mittels Filter oder Zentrifuge eine mechanische Separation durchgeführt und dabei gleichzeitig eine Entgasung der zu verarbeitenden Lösung erreicht werden.

25 Eine für die Zwecke der Erfindung besonders geeignete Beschichtungslösung besitzt die folgenden rheologischen Eigenschaften:

30 Eine dynamische Viskosität von 0,1 Pas bis 40 Pas bei einer Temperatur von 25°C und einer Schergeschwindigkeit von 30,7 s⁻¹. Viskoelastische Eigenschaften der Polymerlösung, wobei das Verhältnis zwischen viskosem und elastischem Anteil Tan K Werte zwischen 1 und 10 (max. 50) bei einer Temperatur von 25°C und einer Schergeschwindigkeit von 30,7 s⁻¹ annimmt. Mit dem beispielhaft genannten Verfahren lassen sich solche Werte ohne weiteres erhalten.

35 Das Verfahren bietet ferner den Vorteil, dass die HA-Stärke besonders schonend und insbesondere durchgängig bei relativ niedrigen Temperaturen (< 60°C) oder vollständig bei Raumtemperatur umgesetzt und verarbeitet wird, was positive Effekte für die Beschichtung des Trägermaterials bewirkt. Durch die Kaltwasserlöslichkeit nach der Neutralisation, Separation, Salzabtrennung und dem Aufkonzentrieren kann die Stärke mit

40 einem Amylose Gehalt von 70 % derart schonend verarbeitet werden, dass keine oder nur unbedeutende Abbaureaktionen einsetzen.

Die wässrige Gießlösung kann vorzugsweise bei Raumtemperatur oder leicht erhöhten Temperaturen mit einem geeigneten Auftragssystem (z.B. Rakel) auf die zu beschichtende Materialbahn (Papier) aufgebracht werden.

5

Besonders günstig hat sich die Verwendung von nach dem Autoklav-Verfahren hergestellten Hydroxypropyletherstärken, insbesondere aus Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von größer 70 % erwiesen, die als Lösungen mit Trockensubstanz-Gehalten von 12 bis 20 Gew.-% und vorzugsweise mit Derivatisierungs-(DS-)Graden von 0,1 bis 1,0, stärker bevorzugt bis 0,4, eingesetzt werden. Diese zeigen im Vergleich mit Handelsmustern (mit Fluorcarbonsäuren beschichtet) deutlich bessere Fettdichtigkeiten, insbesondere auch in Knickstellenbereichen, die bei Faltschachtelanwendungen besonders kritisch sind. Im Vergleich zu den zuvor genannten erfindungsgemäßen Beschichtungen mit handelsüblichen Stärkederivaten können die für die Beschichtung mit diesen Stärken eingesetzten Flächengewichte reduziert werden.

10

15

Beispiel 1

Herstellung von transgenen Kartoffelpflanzen mit hohem Amylosegehalt

20 Kartoffelpflanzen mit einem Amylosegehalt von größer 70 % können hergestellt werden unter Verwendung der Antisense- oder der RNAi-Technologie mit dem Ziel die enzymatische Aktivität der Stärkeverzweigungsenzyme SBE I und SBE II zu reduzieren bzw. zu eliminieren.

25 Beispielsweise wurde die HA-Stärke produzierende transgene Kartoffellinie *Solanum tuberosum* AM99-2003 hergestellt in der die Aktivität der Stärkeverzweigungsenzyme inhibiert ist. Die genetische Transformation der Ausgangssorte Dinamo wurde durchgeführt mit einem Genkonstrukt, welches Genfragmente unter Kontrolle eines GBSS-Promoters von SBE I und SBE II in antisense-Orientierung enthält. PBluescript enthaltend ein 1620 Basenpaare langes Fragment des 3' Endes des SBE I Genes zwischen
30 EcoRV und SpeI wird mit SpeI und XbaI geschnitten und ligiert mit einem 1243 Basenpaare SstI-XbaI Fragment des 3' Endes von SBE II. Der SBE I und der SBE 2 Komplex wird mit Hilfe von EcoRV und XbaI herausgeschnitten und in den mit SmaI und XbaI geöffneten Binärvektor pHo3.1 ligiert. Der entstandene Vektor wird mit pHabe12A bezeichnet, siehe Abbildung 1 und Nukleinsäuresequenz SEQ-ID No. 1.
35 PHo3.1 basiert auf pGPTVKan (Becker, D. et al., Plant Molecular Biology 20 (1992), 1195-1197) und enthält zusätzlich den 987 Basenpaare umfassenden GBSS-Promotor (siehe EP 0 563 189) der in die HindIII Stelle von pGPTVKan kloniert und dessen uidA Gen mit Hilfe von SmaI und SstI entfernt wurde.

40

Die Elternlinie Dinamo wird mit dem Konstrukt pHabe12A mit der in US 6,169,226 beschriebenen Methode transformiert und die transgenen Linien auf Kanamycin-haltigen

Medien selektioniert. Die Analyse des Amylosegehaltes der transgenen Pflanzen erfolgte nach der bei (Morrison, W.R. and Laignelet, B., J. Cereal. Sci. 1 (1983), 9-20) beschriebenen Methode.

- 5 Transgene Kartoffelpflanzen mit einem Amylosegehalt von mindestens 70 % wurden selektioniert und angebaut. Die hochamylosehaltige Stärke wurde nach herkömmlichen Methoden isoliert.

Beispiel 2

- 10 Hydroxypropylierung von hochamylosehaltiger Kartoffelstärke

- 15 Hochamylosehaltige Kartoffelstärke gewonnen aus genetisch modifizierten Kartoffelpflanzen - siehe Beispiel 1 - wurde im Labormaßstab hydroxypropyliert. Die Modifizierung der Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von 70 % erfolgte gemäß eines Autoklav- bzw. Homogenverfahrens.

- 20 Nach der Hydroxypropylierungsreaktion wurde die Lösung für die spätere Beschichtung von Karton durch Entsalzung und Aufkonzentrierung aufbereitet. Das Endprodukt sollte einen Derivatisierungsgrad von ca. 0,2, einen Trockengehalt (w/w) von ca. 18% sowie eine Leitfähigkeit von ca. 600 $\mu\text{S}/\text{cm}$ aufweisen.

Im Rahmen der Versuche zur Kartonbeschichtung wurden mit der hydroxypropylierten HA-Stärke mittels Handrakelauftrag verschiedene Auftragsgewichte erzeugt.

- 25 Zur Beschichtung des Kartons (Firma Cupforma) wurde die HA-Stärke auf 40°C erwärmt. Die HA-Stärkelösung wurde (einmal bzw. zweimal) auf die gestrichene sowie ungestrichene Seite des Kartons aufgetragen.

Beispiel 3

- 30 Charakterisierung des Endproduktes

- 35 Ausgehend von 713 g HA-Stärke aus Kartoffelpflanzen mit einem Amylosegehalt von 70 % - hergestellt nach der in Beispiel 1 beschriebenen Methode - wurden 1770 g Hydroxypropyl-HA-Stärke mit einem Trockengewicht von 27 (w/w) % und einer Leitfähigkeit von 880 $\mu\text{S}/\text{cm}$ hergestellt. Die Leitfähigkeit konnte durch Diafiltration nicht weiter gesenkt werden.

Beispiel 4

Prüfung der Fettdichtigkeit anhand des 3M-KIT-Tests

- 5 Für die Überprüfung auf die Resistenz gegenüber nicht polaren Substanzen, wird die Beschichtung auf die Dichtigkeit gegenüber Gemischen mit 2 l Prüflösungen unterschiedlicher Konzentrationen an Rizinusöl, Toluol und n-Heptan getestet. Die KIT-Lösung mit der höchsten Zahl, die 15 Sekunden auf der Probe stand ohne einen Durchschlag bzw. eine Verfärbung zu bewirken, ist die kennzeichnende KIT-Zahl.

10

Es wurden Kartons der Firma Cupforma verwendet.

Die Tabelle fasst die Ergebnisse zusammen.

Beschichtung in μm	Auftragsgewicht g/m^2	KIT-Test
12	52,7	>21
24	12,1	>21
24 x 2	44,6	>21

15

In allen drei Fällen erwies sich die Beschichtung mit einer KIT-Zahl > 21 als fettdicht gemäß KIT-Test nach 3M.

Beispiel 5

20

- 713 g Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von 70 % werden in 1,3 l destilliertem Wasser 4 Stunden lang gerührt und dann abgenutscht. Die feuchte Stärke wird mit 1,824 l Wasser aufgerührt und mit 1.811 g 10%iger Natronlauge, gewonnen durch Mischen von 376 g 50%iger NaOH mit 1.505 g Wasser versetzt. Die Derivatisierung erfolgt mit 323 g Proylenoxid bei 23°C, das innerhalb von 20 min unter Rühren zugesetzt wird. Man lässt die Mischung noch weitere 4 h rühren und 20 h ruhen. Neutralisiert wird mit 40%iger Phosphorsäure (ca. 700 g). Danach wird die Lösung in Dialyseschläuche gefüllt und ca. 4 Tage bei täglichem Wasserwechsel dialysiert. Das Produkt wird mit Hilfe eines Vacuum-Rotationsverdampfers auf über 20% Trockenmasse aufkonzentriert.

30

Der erhaltene HA-Stärkeether besitzt einen Derivatisierungsgrad von etwa 0,2. Die Leitfähigkeit der Beschichtungsmasse liegt bei etwa 1100 pS/cm.

- 35 Analog zu diesem Beispiel werden die nachstehenden Beschichtungsmassen hergestellt und mit einer 20 μm Rakel auf einseitig gestrichenen Chromo Duplexkarton (GD2), 310 g/m^2 , Dicke ca. 420 μm aufgetragen. Nach der Trocknung des ersten Auf-

trags (fingertrocken, ca. 2 h Dauer) wird eine zweite Schicht aufgetragen und bei Raumtemperatur und etwa 50% Raumfeuchte über etwa 1 Woche, ggf. auch länger, getrocknet.

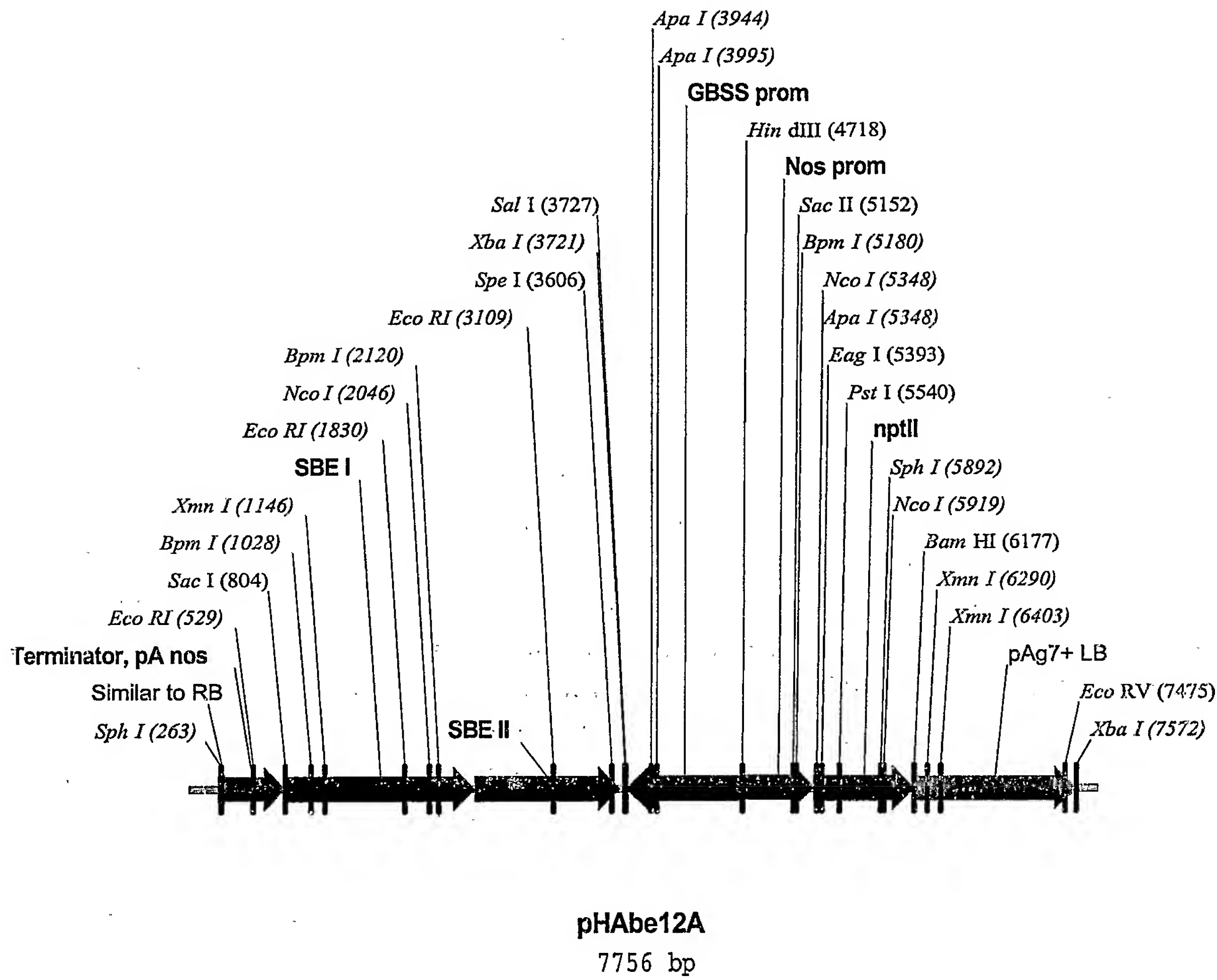
- 5 An drei Kartonbögen der beschichteten Muster erfolgt die Bestimmung der Auftragsmasse durch Wägung (nach DIN 53 104: Prüfung von Papier und Pappe, Bestimmung des Flächengewichts, Sept. 1971) und der Dicke mit einem Dickenmessgerät (Taster: plan/ballig, 30 SKT, MB = 1 μ m). Außerdem wird die KIT-Zahl für unpolare Substanzen nach dem 3M KIT-Test bestimmt. Dabei dienen Lösemittelgemische aus Rizinusöl,
- 10 Toluol und Heptan als Testflüssigkeiten. Die KIT-Lösung mit der höchsten Zahl, die 15 sec. auf der Probe steht, ohne einen Durchschlag oder eine Verfärbung zu bewirken, ist die kennzeichnende KIT-Zahl.

Patentansprüche

1. Mehrschichtige Verpackung für fettende Güter oder Teil einer solchen Verpackung, umfassend
- 5
- eine Trägerschicht aus einem polymeren Material als Hauptkomponente und
 - mindestens eine auf die Trägerschicht aufgebrachte, nicht die Außenseite der Verpackung bildende Schicht, die ein Hochamylose-Stärkederivat mit
- 10
- einem Amylosegehalt von mindestens 70% als Hauptkomponente enthält, dadurch gekennzeichnet, dass das Hochamylose-Stärkederivat ein mit einem C₂-C₆-Alkylenoxid modifiziertes Stärkederivat ist.
2. Mehrschichtige Verpackung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass
- 15
- das Hochamylose-Stärkederivat ein mit einem C₂-C₄-Alkylenoxid modifiziertes Stärkederivat ist.
3. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach Anspruch
- 20
- 1, dadurch gekennzeichnet, dass das C₂-C₆-Alkylenoxid Propylenoxid ist.
4. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach einem der
- voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Hochamylose-
- Stärkederivat durch Modifizierung ggf. teilabgebauter Mais-, Weizen-, Kartoffel-,
- HA Erbsen- oder Tapiokastärke erhalten wird.
- 25
5. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach einem der
- voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Derivatisie-
- rungsgrad des Stärkederivats 0,1 bis 1, stärker bevorzugt 0,1 bis 0,4 beträgt.
- 30
6. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach einem der
- voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das polymere Mate-
- rial der Trägerschicht ein natürlich vorkommendes Polymer, vorzugsweise Cellu-
- lose, ist.
- 35
7. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach einem der
- voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die ein Hochamylo-
- se-Stärkederivat als Hauptkomponente enthaltende Schicht zusätzliche Bestand-
- teile, ausgewählt unter Pigmenten, Weichmachern, die Langzeitstabilität erhö-
- henden Mitteln, die Wasserstabilität erhöhenden Mitteln und die Elastizität beein-
- flussenden Mitteln, enthält.
- 40

- 5 8. Verwendung einer mit einem C₂-C₆-Alkylenoxid derivatisierten Hochamylose-Stärke als Hauptkomponente einer Schicht einer mehrschichtigen Verpackung, die auf einer Trägerschicht dieser Verpackung aus einem polymeren Material aufgebracht ist, zur Erzeugung von Fettdichtigkeit der mehrschichtigen Verpackung.
9. Verwendung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das C₂-C₆-Alkylenoxid Propylenoxid ist .
- 10 10. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Stärkederivat durch Modifizierung von Hochamylose-Kartoffelstärke erhalten wird und ggf. einen Derivatisierungsgrad von 0,1 bis 1, stärker bevorzugt von 0,1 bis 0,4 aufweist.
- 15 11. Verwendung nach einem der Ansprüche 8, 9 oder 10 dadurch gekennzeichnet, dass zur Modifizierung eine Hochamylose-Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von mindestens 70 % verwendet wird.
- 20 12. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die genannte Schicht zusätzliche Bestandteile, ausgewählt unter Pigmenten, Weichmachern, die Langzeitstabilität erhöhenden Mitteln, die Wasserstabilität erhöhenden Mitteln, den KIT-Wert erhöhenden Mitteln und die Elastizität beeinflussenden Mitteln, bevorzugt ausgewählt unter Glycerin, Harnstoff, Borax oder Glyoxal, enthält.

Figur 1



SEQUENZPROTOKOLL

<110> BASF Plant Science GmbH

5 <120> Verwendung von hydroxypropylierter Kartoffelstärke zur Erzielung hoher KIT-Zahlen

<130> AE20040256

10 <140> AE20040256
<141> 2004-03-31

<160> 1

15 <170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1
<211> 15294
<212> DNA

20 <213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Vektor
pHabel2A

25 <400> 1

ggccgggagg	gttcgagaag	ggggggcacc	ccccttcggc	gtgcgcggtc	acgcgcacag	60
ggcgcagccc	tggttaaaaa	caaggtttat	aaatattggt	ttaaaagcag	gttaaaagac	120
aggtttagcgg	tggccgaaaa	acgggacgaa	acccttgcaa	atgctggatt	ttctgcctgt	180
30 ggacagcccc	tcaaagtgtca	ataggtgcgc	ccctcatctg	tcagcactct	gccctcaag	240
tgtcaaggat	cgcgcacctc	atctgtcagt	agtcgcgccc	ctcaagtgtc	aataccgcag	300
ggcacttatc	cccaggcttg	tccacatcat	ctgtgggaaa	ctcgcgtaaa	atcaggcggt	360
ttcgcgcgatt	tgcgaggctg	gccagctcca	cgtcgcgggc	cgaaatcgag	cctgccccctc	420
atctgtcaac	gccgcgcggg	gtgagtcggc	ccctcaagtg	tcaacgtccg	cccctcatct	480
35 gtcagtgagg	gccaagtttt	cegegaggta	tccagaacgc	cggcggccgc	ggtgtctcgc	540
acacggcttc	gacggcggtt	ctggcgcggt	tgcagggcca	tagacggccg	ccagcccagc	600
ggcgagggca	accagcccgg	tgagcgtcgc	aaaggcgctc	ggtcttgccct	tgctcgtcgg	660
tgatgtactt	caccagctcc	gcgaagtcgc	tcttcttgat	ggagcgcgat	gggacgtgct	720
tggcaatcac	gcgcaccccc	cggccggttt	agcgggctaaa	aaagtcattg	ctctgcccctc	780
40 gggcggacca	cgcccatcat	gaccttgcca	agctcgtcct	gcttctcttc	gatcttcgcc	840
agcagggcga	ggatcgtggc	atcaccgaac	cgcgcgcgtg	gcgggtcgtc	ggtgagccag	900
agtttcagca	ggccgcccag	gcggcccagg	tcgccattga	tgccggccag	ctcgcggacg	960
tgctcatagt	ccacgacgcc	cgtgattttg	tagccctggc	cgacggccag	caggtaggcc	1020
gacaggctca	tgccggccgc	cgccgccttt	tcctcaatcg	ctcttcgttc	gtctggaagg	1080
45 cagtacacct	tgatagggtg	gctgcccttc	ctgggttggt	tggtttcatc	agccatccgc	1140
ttgccctcat	ctgttacgcc	ggcggtagcc	ggccagcctc	gcagagcagg	attcccgttg	1200
agcaccgcca	ggtgcgaata	agggacagtg	aagaaggaa	acccgctcgc	gggtgggcct	1260
acttcaccta	tcctgcccgg	ctgacgcctg	tggatacacc	aaggaaagtc	tacacgaacc	1320
cttttgcaaa	atcctgtata	tcgtgcgaaa	aaggatggat	ataccgaaaa	aatcgctata	1380
50 atgaccccga	agcagggtta	tgcagcggaa	aagcgcacg	cttcccgaag	ggagaaaggc	1440
ggacagggtat	ccggtaagcg	gcagggtcgg	aacaggagag	cgcaagaggg	agcttccagg	1500
gggaaacgcc	tggtatcttt	atagtcctgt	cgggtttcgc	cacctctgac	ttgagcgtcg	1560
atTTTTgtga	tgctcgtcag	gggggcggag	cctatggaaa	aacgccagca	acgcggcctt	1620
tttaacggttc	ctggcctttt	gctggccttt	tgctcacatg	ttctttcctg	cgttatcccc	1680
55 tgattctgtg	gataaccgta	ttaccgcctt	tgagtgagct	gataaccgctc	gccgcagccg	1740
aacgaccgag	cgcagcgagt	cagtgagcga	ggaagcggaa	gagcgcacga	aggccgccag	1800
agaggccgag	cgcggccgtg	aggcttggac	gctagggcag	ggcatgaaaa	agcccgtagc	1860
gggctgctac	gggcgtctga	cgcgggtgaa	agggggaggg	gatgttgtct	acatggctct	1920
gctgtagtga	gtgggttgcg	ctccggcagc	ggtcctgatc	aatcgtcacc	ctttctcggt	1980
60 ccttcaacgt	tcctgacaac	gagcctcctt	ttcgccaatc	catcgacaat	caccgcgagt	2040
ccctgctcga	acgctgcgtc	cggaccggct	tcgtcgaagg	cgtctatcgc	ggcccgaac	2100
agcggcgaga	gcggagcctg	ttcaacgggtg	ccgccgcgct	cgccggcatc	gctgtcgccg	2160
gcctgctcct	caagcacggc	cccaacagtg	aagtagctga	ttgtcatcag	cgcattgacg	2220
gcgtccccgg	ccgaaaaacc	cgcctcgcag	aggaagcgaa	gctgcgcgtc	ggccgtttcc	2280

	atctgcggtg	cgcccggctg	cgtgccggca	tggatgcgcg	cgccatcgcg	gtaggcgagc	2340
	agcgccctgcc	tgaagctgcg	ggcattcccc	atcagaaatg	agcgccagtc	gtcgctcggt	2400
	ctcggcaccg	aatgcgtatg	attctccgcc	agcatggctt	cggccagtcg	gtcgagcagc	2460
	gcccgccttg	tcctgaagtg	ccagtaaagc	gccggctgct	gaacccccaa	ccgttccgcc	2520
5	agttttgcgtg	tcgtcagacc	gtctacgccc	acctcggtca	acaggtccag	ggcggcacgg	2580
	atcactgtat	tcggctgcaa	ctttgtcatg	cttgacactt	tatcactgat	aaacataata	2640
	tgtccaccaa	cttatcagtg	ataaagaatc	cgcgcgttca	atcggaccag	cggaggctgg	2700
	tccggaggcc	agacgtgaaa	cccaacatac	ccctgatcgt	aattctgagc	actgtcgcgc	2760
	tcgacgctgt	cggcatcggc	ctgattatgc	cgggtgctgcc	gggcctcctg	cgcgatctgg	2820
10	ttcactcgaa	cgacgtcacc	gcccactatg	gcattctgct	ggcgtgtgat	gcgttggtgc	2880
	aattttgcctg	cgcacctgtg	ctgggcccgc	tgtcggatcg	tttcggggcg	cggccaatct	2940
	tgctcgtctc	gctggccggc	gccaagatct	ggggaacctt	gtggttgga	tgcacataca	3000
	aatggacgaa	cggataaacc	ttttcacgcc	cttttaata	tccgattatt	ctaataaacg	3060
	ctctttttctc	ttagggtttac	ccgccaatat	atcctgtcaa	acactgatag	tttaaactga	3120
15	aggcgggaaa	cgacaatctg	atcatgagcg	gagaattaag	ggagtcacgt	tatgaccccc	3180
	gccgatgacg	cgggacaagc	cgtttttacgt	ttggaactga	cagaaccgca	acgttgaagg	3240
	agccactcag	ccgatctgaa	ttcccgatct	agtaacatag	atgacaccgc	gcgcgataat	3300
	ttatcctagt	ttgcgcgcta	tattttgttt	tctatcgcgt	attaaatgta	taattgcggg	3360
	actctaataca	taaaaaccca	tctcataaat	aacgtcatgc	attacatgtt	aattattaca	3420
20	tgcttaacgt	aattcaacag	aaattatatg	ataatcatcg	caagaccggc	aacaggattc	3480
	aatcttaaga	aacttttattg	ccaaatgttt	gaacgatcgg	ggaaattcga	gctcgggtacc	3540
	atcatgttac	aaacttttttt	gctgtgagca	gtagatatgg	aaacccggag	gacctaaagt	3600
	atctgataga	taaagcacat	agcttgggtt	tacaggttct	ggtggatgta	gttcacagtc	3660
	atgcaagcaa	taatgccact	gatggcctca	atggctttga	tattggccaa	ggttctcaag	3720
25	aatcctactt	tcatgctgga	gagcaagggt	accataagtt	gtgggatagc	aggctgttca	3780
	actatgccaa	ttggggagggt	cttcgtttcc	ttctttccaa	cttgagggtg	tggctagaag	3840
	agtataactt	tgacggattt	cgatttgatg	gaataacttc	tatgctgtat	gttcacatgc	3900
	gaatcaatat	gggattttaca	ggaaactata	atgagtattt	cagcgaggct	acagatgttg	3960
	atgctgtggt	ctattttaatg	ttggccaata	atctgattca	caagattttc	ccagacgcaa	4020
30	ctgtttattgc	cgaagatgtt	tctgggtatgc	cgggccttgg	ccggcctgtt	tctgaggggag	4080
	gaattgggtt	tgattaccgc	ctggcaatgg	caatcccaga	taagtggata	gattatttaa	4140
	agaataaaaa	tgatgaagat	tggtccatga	aggaagtaa	atcgagtftg	acaaatagga	4200
	gatatacaga	gaagtgtata	gcataatgcg	agagccatga	tcagtctatt	gtcggtgaca	4260
	agaccattgc	atttctccta	atggacaaag	agatgtatc	tggcatgtct	tgcttgacag	4320
35	atgcttctcc	tgttattgat	cgaggaattg	cgcttcacaa	gatgatccat	tttttcacaa	4380
	tggccttggg	aggagagggg	tacctcaatt	tcattgggtaa	cgagtttggc	catcctgagt	4440
	ggattgactt	ccctagagag	ggcaataatt	ggtgttatga	caaatgtaga	cgccagtggg	4500
	accttgccga	tagcgaacac	ttgagataca	agtttatgaa	tgcatttgat	agagctatga	4560
	attcgctcga	tgaaaagtcc	tcattcctcg	catcaggaaa	acagatagta	agcagcatgg	4620
40	atgatgagaa	gaaggttgtt	gtgtttgaac	gtggtgacct	ggtatttgta	ttcaacttcc	4680
	acccaaataa	cacatacga	gggtataaag	ttggatgtga	cttgccaggg	aagtacagag	4740
	ttgcactgga	cagtgatgct	tgggaatttg	gtggccatgg	aagagctggt	catgatgttg	4800
	accattttcac	atcaccagaa	ggaataacctg	gagttccaga	aacaaatttc	aatggtcgtc	4860
	caaattccct	caaagtgcgt	tctcctgcgc	gaacatgtgt	ggcttattac	agagttgacg	4920
45	aacgcagtgc	agaaactgaa	gtttaccaga	cagacatttc	tagtgagcta	ctaccaacag	4980
	ccaatatcga	ggagagtgc	gagaaactta	aagattcgtt	atctacaaat	atcagtaacg	5040
	ttgacgaact	catgtcagaa	actgaagttt	accagacaga	catttctagt	gagctactac	5100
	caacagccag	tatcgaggag	agtgcagaga	aacttaaaaga	ttcattatct	acaaatatca	5160
	gtacgtgggt	atcattggat	gtgggattcc	cgcctcttta	attatggaaa	ctgggaggta	5220
50	cttaggtatc	ttctctcaaa	tgcgagatgg	tgggtggatg	agttcaaatt	tgatggattt	5280
	agattcgatg	gtgtgacatc	aataatgtat	actcaccacg	gattatcggt	gggattcact	5340
	gggaactaca	aggaatactt	tggactcgca	actgatgtgg	atgctgttgt	gtatctgatg	5400
	ctgggtcaacg	atcttattca	tgggcttttc	cagatgcaat	taccattggg	gaagatgtta	5460
	gcggaatgcc	gacattttgt	attcccgttc	aagatggggg	tgttggcttt	gactatcggc	5520
55	tgcatatggc	aattgctgat	aaatggattg	agttgctcaa	gaaacgggat	gaggattgga	5580
	gagtgggtga	tattgttcat	acactgacaa	atagaagatg	gtcggaaaag	tgtgtttcat	5640
	acgctgaaag	tcatgatcaa	gctctagtgc	gtgataaaac	tatagcatte	tggctgatgg	5700
	acaaggatat	gtatgatttt	atggctctgg	atagaccatc	aacatcatta	atagatcgtg	5760
	ggatagcatt	gcacaagatg	attaggcttg	taactatggg	attaggagga	gaagggtacc	5820
60	taaattttcat	gggaaatgaa	ttcggccacc	ctgagtggat	tgatttccct	agggtgaac	5880
	aacacctctc	tgatggctca	gtaattcccc	gaaaccaatt	cagttatgat	aaatgcagac	5940
	ggagatttga	cctgggagat	gcagaatatt	taagataccg	tgggttgcaa	gaatttgacc	6000
	gggctatgca	gtatcttgaa	gataaatatg	agtttatgac	ttcagaacac	cagttcatat	6060
	cacgaaagga	tgaaggagat	aggatgattg	tatttgaaaa	aggaaaccta	gtttttgtct	6120

	ttaatttttca	ctggacaaaa	agctatttcag	actatcgcac	aggctgcctg	aagcctggaa	6180
	aatacaaggt	tgccttggac	tcagatgac	cacttttttg	tggcttcggg	agaattgatc	6240
	ataatgccga	atatttcacc	tttgaaggat	ggtatgatga	tcgtcctcgt	tcaattatgg	6300
	tgtatgcacc	tagtagaaca	gcagtgggtc	atgcactagt	agacaaagaa	gaagaagaag	6360
5	aagaagaagt	agcagtagta	gaagaagtag	tagtagaaga	agaatgaacg	aacttgtgat	6420
	cgcgttgaaa	gatttgaagg	ctacatagct	ctagagtcga	cctgcatgaa	atcagaaata	6480
	attggaggag	atgagtaaaa	gttaccactt	gttgagctgt	gtgagtgagt	gagtgagaat	6540
	gaggaggtgc	ctgccttatt	tgtagcaggt	ttcagtgcac	cgtgtcaaga	gaatagcggg	6600
	tggctatccc	ttagcagaag	gcaactgtgg	acactgtatt	atagggaaat	gctcatcgac	6660
10	agtattatgg	gccctctctt	tgttgattca	cggctggact	tcaacttggg	ccttgcaatg	6720
	ggcccgtccg	gttctgtctc	ctagtatcta	aaaaactaaa	ccaactccct	cctaccgcta	6780
	ccacttgaca	ttcctatgtc	tcgtgttaat	taaattatta	ttatagtaat	taaaaataat	6840
	atctaggtag	tggtagtggt	ccctccctcc	actagaatat	tagttacttc	ccccttagct	6900
	ttgtattcca	aattactgta	aatatatattt	ctaatttttt	acgacaaaca	agatctaatt	6960
15	atgaatgcac	aattctaaag	gttgaataca	ttactttact	tgggttagcc	tatattaagt	7020
	tgcatttttag	tattaagatt	gagatgcatg	gttctattac	aaaattgata	cactgctaaa	7080
	ggaaggatgg	ttaaaaacaa	cattcaatgt	ttgttacatt	tcttccctatt	gtattttttt	7140
	tttaacgagc	ttcccgtata	catcataaca	tgtctccgtt	ccacttggca	ggaaaaaaa	7200
	atacccaaac	aggaagatac	tgtcaagtat	atccatagat	gaggacttaa	tggataggct	7260
20	tttcgaggat	tcataaatca	taatatctgg	cggaggagtc	aattaaatac	ttgtggtttg	7320
	tatcctgatt	actccgtcaa	cagccaaata	gaaaagtttg	aaaagagaga	aaggatttgg	7380
	tacaagatac	tgttgcatth	gttaagtaat	gaacaaaacg	gagtaacata	atthttctatc	7440
	tcgttaaagc	ttcacgctgc	cgcaagcact	cagggcgcaa	gggctgctaa	ggaagcggaa	7500
	cacgtagaaa	gccagtccgc	agaaacgggt	ctgaccccg	atgaatgtca	gctactgggc	7560
25	tatctggaca	agggaaaacg	caagcgcaaa	gagaaagcag	gtagcttgca	gtgggcttac	7620
	atggcgatag	ctagactggg	cggttttatg	gacagcaagc	gaaccggaat	tgccagctgg	7680
	ggcgccctct	ggtaagggtg	ggaagccctg	caaagtaaac	tggatggctt	tcttgccgcc	7740
	aaggatctga	tggcgagggg	gatcaagatc	atgagcggag	aattaaggga	gtcacgttat	7800
	gaccccgcc	gatgacgcgg	gacaagccgt	tttacgtttg	gaactgacag	aaccgcaacg	7860
30	ttgaaggagc	cactcagccg	cgggtttctg	gagtttaatg	agctaagcac	atacgtcaga	7920
	aaccattatt	gcgcgttcaa	aagtcgccta	aggctactat	cagctagcaa	atatttcttg	7980
	tcaaaaatgc	tccactgacg	ttccataaat	tcccctcggt	atccatttag	agctctcatat	8040
	tcactctcaa	tccagatctc	gactctagtc	gagggcccat	gggagcttgg	attgaacaag	8100
	atggattgca	cgcaggttct	ccggccgctt	gggtggagag	gctattcggc	tatgactggg	8160
35	cacaacagac	aatcggctgc	tctgatgccg	ccgtgttccg	gctgtcagcg	caggggcccc	8220
	cggttctttt	tgtcaagacc	gacctgtccg	gtgccctgaa	tgaactgcag	gacgaggcag	8280
	cgcggctatc	gtggctggcc	acgacgggcg	ttccttgccg	agctgtgctc	gacgttgctc	8340
	ctgaagcggg	aagggactgg	ctgctatttg	gcgaagtgcc	ggggcaggat	ctcctgtcat	8400
	ctcaccttgc	tcctgcccag	aaagtatcca	tcattggctga	tgcaatgcgg	cggctgcata	8460
40	cgcttgatcc	ggctacctgc	ccattcgacc	accaagcgaa	acatcgcatc	gagcgagcac	8520
	gtactcggat	ggaagccggt	cttgtcgatc	aggatgatct	ggacgaagag	catcaggggc	8580
	tcgcgccagc	cgaactgttc	gccaggctca	aggcgcgcat	gcccagcgcc	gaggatctcg	8640
	tcgtgaccca	tggcgatgcc	tgcttgccga	atatcatggg	ggaaaatggc	cgtttttctg	8700
	gattcatcga	ctgtggccgg	ctgggtgtgg	cggaccgcta	tcaggacata	gcgttggcta	8760
45	cccgatgat	tgcgtgaagag	cttggcgggc	aatgggctga	ccgcttcctc	gtgctttacg	8820
	gtatcgccgc	tcccgatctg	cagcgcatcg	ccttctatcg	ccttcttgac	gagttcttct	8880
	gagcgggacc	caagctagct	tcgacggatc	ccccgatgag	ctaagctagc	tatatcatca	8940
	atthtatgtat	tacacataat	atcgactca	gtctttcatc	tacggcaatg	taccagctga	9000
	tataatcagt	tattgaaata	tttctgaatt	taaacttgca	tcaataaatt	tatgtttttg	9060
50	cttggactat	aatacctgac	ttgttattht	atcaataaat	atthaaacta	tatttcttht	9120
	aagatgggaa	ttaattcact	ggccgtcgtt	ttacaacgtc	gtgactggga	aaaccctggc	9180
	gttaccacaac	ttaatcgcc	tgcagcacat	cccccttht	ccagctggcg	taatagcgaa	9240
	gagggccgca	ccgatcgccc	ttcccaacag	ttgcgcagcc	tgaatggcgc	ccgctcctth	9300
	cgttttcttc	ccttccctth	tcgccacgtt	cgcgggctth	ccccgtcaag	ctctaaatcg	9360
55	ggggctccct	ttaggggttc	gatttagtgc	tttacggcac	ctcgacccca	aaaaacttga	9420
	tttgggtgat	ggttcacgta	gtgggcatc	gccctgatag	acggttttth	gccctthtgc	9480
	gttggagtcc	acgttcttht	atagtggact	cttgttccaa	actggaacaa	cactcaacc	9540
	tatctcgggc	tattcttht	atthataagg	gattthtgcg	atthtgggaa	caccatcaaa	9600
	caggatttht	gcctgctggg	gcaaaccagc	gtggaccgct	tgctgcaact	ctctcagggc	9660
60	cagggcgtga	agggcaatca	gctgttgccc	gtctcactgg	tgaaaagaaa	aaccacccca	9720
	gtacattaaa	aacgtccgca	atgtgttatt	aagttgtcta	agcgtcaatt	tgtttacacc	9780
	acaatatatc	ctgccaccag	ccagccaaca	gctccccgac	cggcagctcg	gcacaaaatc	9840
	accactcgat	acaggcagcc	catcagtcgg	ggacggcgct	agcgggagag	ccgttgtaag	9900
	gcggcagact	ttgctcatgt	taccgatgct	attcgggaaga	acggcaacta	agctgccggg	9960

	tttgaacac	ggatgatctc	gaggagggta	gcatgttgat	tgtaacgatg	acagagcggt	10020
	gctgcctgtg	atcaaatac	atctccctcg	cagagatccg	aattatcagc	cttcttattc	10080
	atttctcgct	taaccgtgac	aggctgtcga	tcttgagaac	tatgccgaca	taataggaaa	10140
	tcgctggata	aagccgctga	ggaagctgag	tggcgctatt	tctttagaag	tgaacggtga	10200
5	cgatatcaac	tcccctatcc	attgctcacc	gaatgggtaca	ggtcgggggac	ccgaagttcc	10260
	gactgtcggc	ctgatgcac	cccggctgat	cgaccccgaga	tctagatctg	gggctgagaa	10320
	agcccagtaa	ggaaacaact	gtagggttcga	gtcgcgagat	cccccggaac	caaaggaagt	10380
	aggttaaacc	cgctccgac	aggccgagcc	acgccaggcc	gagaacattg	gttcctgtag	10440
	gcatcgggat	tggcggtaca	aacactaaag	ctactggaac	gagcagaagt	cctccggccg	10500
10	ccagttgcc	ggcggtaaag	gtgagcagag	gcacgggagg	ttgccacttg	cgggtcagca	10560
	cggttccgaa	cgccatggaa	accgcccccg	ccaggccccg	tgcgacgccg	acaggatcta	10620
	gcgctgcgtt	tgggtgtcaac	accaacagcg	ccacgcccg	agttccgcaa	atagccccc	10680
	ggaccgccat	caatcgtatc	gggctaccta	gcagagcggc	agagatgaac	acgaccatca	10740
	gcggtcgcac	agcgctacc	gtcgcgcga	ccccgccccg	caggcggtag	accgaaataa	10800
15	acaacaagct	ccagaatagc	gaaatattaa	gtgcgcgcgag	gatgaagatg	cgcatccacc	10860
	agattcccgt	tggatctgt	cggacgatca	tcacgagcaa	taaacccgcc	ggcaacgccc	10920
	gcagcagcat	accggcgacc	cctcggcctc	gctgttcggg	ctccacgaaa	acgccggaca	10980
	gatgcgcctt	gtgagcgctc	ttggggccgt	cctcctgttt	gaagaccgac	agcccaatga	11040
	tctcgcgcgt	gatgtaggcg	ccgaatgcca	cggcatctcg	caaccgttca	gcgaacgcct	11100
20	ccatgggctt	tttctcctcg	tgctcgtaaa	cggacccgaa	catctctgga	gctttcttca	11160
	gggcccgaac	tcggatctcg	cggaaatcct	gcacgtcggc	cgctccaagc	cgtcgaatct	11220
	gagccttaat	cacaattgtc	aatttttaac	ctctgtttat	cggcagttcg	tagagcgcg	11280
	cgtgcgtccc	gagcgatact	gagcgaagca	agtgcgtcga	gcagtgcgcc	cttggttctg	11340
	aaatgccagt	aaagcgctgg	ctgctgaacc	cccagccgga	actgaccca	caaggcccta	11400
25	gcgtttgcaa	tgcaccaggt	catcattgac	ccaggcgtgt	tccaccaggc	cgctgcctcg	11460
	caactcttcg	caggcttcgc	cgacctgctc	gcgccacttc	ttcacgcggg	tggaatccga	11520
	tccgcacatg	aggcggaagg	tttccagctt	gagcgggtac	ggctcccggg	gcgagctgaa	11580
	atagtcgaac	atccgtcggg	ccgtcggcga	cagcttgccg	tacttctccc	atatgaattt	11640
	cgtgtagtgg	tcgccagcaa	acagcacgac	gatttccctc	tcgatcagga	cctggcaacg	11700
30	ggacgttttc	ttgccacggg	ccaggacgcg	gaagcgggtg	agcagcgaca	ccgattccag	11760
	gtgcccaacg	cggtcggacg	tgaagcccat	cgccgtcgcc	tgtaggcgcg	acaggcattc	11820
	ctcggccttc	gtgtaatacc	ggccattgat	cgaccagccc	aggtcctggg	aaagctcgta	11880
	gaacgtgaag	gtgatcggt	cgccgatagg	ggtgcgcttc	gcgtactcca	acacctgctg	11940
	ccacaccagt	tcgtcatcgt	cggcccgcag	ctcgacgcgc	gtgtagggtg	tcttcacgtc	12000
35	cttggttgacg	tggaaaatga	ccttggtttg	cagcgcctcg	cgcgggattt	tcttggttgcg	12060
	cgtggtgaac	agggcagagc	gggcccgtgc	gtttggcatc	gctcgcacgc	tgtccggcca	12120
	cggcgcaata	tcgaacaagg	aaagctgcat	ttccttgatc	tgctgcttcg	tgtgtttcag	12180
	caacgcggcc	tgcttgccct	cgctgacctg	ttttgccagg	tcctcgcgcg	cggtttttcg	12240
	cttcttggtc	gtcatagttc	ctcgcgtgtc	gatgggtcatc	gacttcgcca	aacctgccgc	12300
40	ctcctgtttc	agacgacgcg	aacgctccac	ggcggccgat	ggcgcgggca	gggcaggggg	12360
	agccagttgc	acgctgtcgc	gctcgatctt	ggccgtagct	tgctggacca	tcgagccgac	12420
	ggactggaag	gtttcgcggg	gcgcacgcac	gacgggtgcg	cttgcgatgg	tttcggcatc	12480
	ctcggcgga	aaccccgcg	cgatcagttc	ttgcctgtat	gccttccggg	caaacgtccg	12540
	attcattcac	cctccttgcg	ggattgcccc	gactcacgcc	ggggcaatgt	gcccttattc	12600
45	ctgatttgac	ccgcctgggtg	ccttggtgtc	cagataatcc	accttatcgg	caatgaagtc	12660
	ggcccgtag	accgtctggc	cgctccttct	gtacttggtg	ttccgaatct	tgccctgcac	12720
	gaataccagc	gaccccttgc	ccaaataact	gccgtggggc	tcggcctgag	agccaaaaca	12780
	cttgatgcgg	aagaagtcgg	tgcgctcctg	cttgctgcgc	gcacgttgc	gccacatcta	12840
	ggtactaaaa	caattcatcc	agtaaaatat	aataattttat	tttctcccaa	tcaggcttga	12900
50	tcccagtaa	gtcaaaaaat	agctcgacat	actgttcttc	cccgatatcc	tccttgatcg	12960
	accggacgca	gaaggcaatg	tcataccact	tgtccgccct	gccgcttctc	ccaagatcaa	13020
	taaagccact	tactttgcca	tctttcacaa	agatgttgct	gtctcccagg	tcgccgtggg	13080
	aaaagacaag	ttcctcttcg	ggcttttccg	tctttaaaaa	atcatacagc	tcgcgcggat	13140
	ctttaaatgg	agtgtcttct	tcccagtttt	cgcaatccac	atcgcccgga	tcgttattca	13200
55	gtaagtaatc	caattcggct	aagcggctgt	ctaagctatt	cgtataggga	caatccgata	13260
	tgtcgatgga	gtgaaagagc	ctgatgcact	ccgcatacag	ctcgataatc	ttttcagggc	13320
	tttggttcac	ttcatactct	tccgagcaaa	ggacgccatc	ggcctcactc	atgagcagat	13380
	tgctccagcc	atcatgccgt	tcaaagtgca	ggacctttgg	aacaggcagc	tttccttcca	13440
	gccatagcat	catgtccttt	tcccgttcca	catcataggt	ggccctttta	taccggctgt	13500
60	ccgtcatttt	taaatatagg	ttttcatttt	ctcccaccag	cttatatacc	ttagcaggag	13560
	acattccttc	cgtatctttt	acgcagcggg	atttttcgat	cagttttttc	aattccgggtg	13620
	atattctcat	tttagccatt	tattatttcc	ttcctctttt	ctacagtatt	taaagatacc	13680
	ccaagaagct	aattataaca	agacgaactc	caattcactg	ttccttgcat	tctaaaacct	13740
	taaataccag	aaaacagctt	tttcaaagtt	gttttcaaag	ttggcggtata	acatagtatc	13800

	gacggagccg	atdddgaaac	cacaattatg	ggtgatgctg	ccaacttact	gatttagtgt	13860
	atgatggtgt	ttttgaggtg	ctccagtggc	ttctgtgtct	atcagctgtc	cctcctgttc	13920
	agctactgac	ggggtggtgc	gtaacggcaa	aagcacccgc	ggacatcagc	gctatctctg	13980
	ctctcactgc	cgtaaaacat	ggcaactgca	gttcacttac	accgcttctc	aacccggtac	14040
5	gcaccagaaa	atcattgata	tggccatgaa	tggcggttga	tgcggggcaa	cagcccgcac	14100
	tatgggcgtt	ggcctcaaca	cgatdddacg	tcacttaaaa	aactcaggcc	gcagtcggta	14160
	acctcgcgca	tacagccggg	cagtgcgctc	atcgtctgcg	cggaaatgga	cgaacagtgg	14220
	ggctatgtcg	gggctaaatc	gcgccagcgc	tggctgtttt	acgcgtatga	cagtctccgg	14280
	aagacgggtg	ttgcgcacgt	attcggtgaa	cgcactatgg	cgacgctggg	gcgtcttatg	14340
10	agcctgctgt	caccctttga	cgtggtgata	tggatgacgg	atggctggcc	gctgtatgaa	14400
	tcccgcctga	agggaaagct	gcacgtaatc	agcaagcgat	atacgcagcg	aattgagcgg	14460
	cataacctga	atctgaggca	gcacctggca	cggctgggac	ggaagtcgct	gtcgttctca	14520
	aaatcgggtg	agctgcatga	caaagtcatc	gggcattatc	tgaacataaa	acactatcaa	14580
	taagttggag	tcattaccca	attatgatag	aattttacaag	ctataagggtt	attgtcctgg	14640
15	gtttcaagca	ttagtccatg	caagttdtta	tgctttgccc	attctataga	tatattgata	14700
	agcgcgctgc	ctatgccttg	ccccctgaaa	tccttacata	cggcgatatc	ttctatataa	14760
	aagatatatt	atcttatcag	tattgtcaat	atattcaagg	caatctgcct	cctcatcctc	14820
	ttcatcctct	tcgtcttggt	agcttdttaa	atatggcgct	tcatagagta	attctgtaaa	14880
	ggtccaattc	tcgttdttcat	acctcggtat	aatcttacct	atcacctcaa	atgggttcgct	14940
20	gggtttatcg	cacccccgaa	cacgagcacg	gcacccgcga	ccactatgcc	aagaatgccc	15000
	aaggtaaaaa	ttgcgggccc	cgccatgaag	tccgtgaatg	ccccgacggc	cgaagtgaag	15060
	ggcaggccgc	cacccaggcc	gccgccctca	ctgcccgcca	cctggctcgt	gaatgtcgat	15120
	gccagcacct	gcggcacgtc	aatgcttccg	ggcgtcgcgc	tcgggctgat	cgcccatccc	15180
	gttactgccc	cgatcccggc	aatggcaagg	actgccagcg	ctgccatttt	tggggtgagg	15240
25	ccgttcgcgg	ccgagggggc	cagcccctgg	ggggatggga	ggcccgcggt	agcg	15294